

マイクロパターン培養神経回路を用いた炎症性サイトカインによる神経活動変調効果の in vitro モデリング

In vitro modeling of neural activity modulation induced by inflammatory cytokines using micropatterned neuronal networks

東北大院工¹ 東北大通研² 東北大院医工³ 東北大 AIMR⁴

°酒井原一守^{1,2}, 山本英明^{1,2}, 室田白馬^{1,2}, 佐藤茂雄^{1,2}, 平野愛弓¹⁻⁴

Grad. Sch. Eng¹, RIEC², Grad. Sch. Biomed. Eng³, and AIMR⁴, Tohoku Univ.

°M. Sakaibara^{1,2}, H. Yamamoto^{1,2}, H. Murota^{1,2}, S. Sato^{1,2}, A. Hirano-Iwata¹⁻⁴

E-mail: mamoru.sakaibara.s2@dc.tohoku.ac.jp

【背景・目的】COVID-19の重症患者に見られる症状として、高熱や呼吸器障害の他に、記憶障害や脳炎などの脳機能障害がある(Adeel S et al., JAMA Neuro, 2020). 重症患者では血中でInterleukin(IL)-6をはじめとする炎症性サイトカインが顕著に増加することが知られており、またこのようなサイトカインストームがCOVID-19由来の脳炎と関連していることも示唆されている(Pilotto et al., Clin. Infect. Dis. 2021). 脳機能障害のメカニズムの解明や治療法の研究にはin vitroでの実験も重要であるが、均質な表面上で培養された神経細胞は回路全体で強く同期した連続発火(ネットワークバースト)を高頻度を示すため、炎症性サイトカインによる活動変調の影響を観察する実験系としては問題を抱えていた。そこで本研究では、polydimethylsiloxane (PDMS)製のマイクロ流路を用いたパターン型培養神経回路を用いて過剰なネットワークバーストを抑制した上で、IL-6による神経活動変調効果を解析したので、その結果を報告する。

【実験方法】パターン型培養のためのマイクロ流路は、先行研究を基にPDMSを用いて作製した(Takemuro et al., Jpn. J. Appl. Phys. 2020). マイクロ流路を洗浄・オートクレーブ滅菌し、poly-D-lysineをコートしたガラス基板に貼り付け、パターン型培養の基板を作製した。作製した基板上に胎生18日ラット大脳皮質から採取した神経細胞を播種した。IL-6は培養12日目から13日目の間で培地中に10 ng/mLの濃度で投与し、蛍光カルシウムイメージング法により自発活動を計測した。

【結果・考察】培養神経回路に対してIL-6を投与すると、パターン型培養神経回路の50%においてネットワークバースト頻度が2倍以上増加した(Fig a; n=16). 対照的に、パターンニングを施していないランダム型培養神経回路では、IL-6投与によりネットワークバースト頻度が2倍以上増加した割合は12.5%に留まった(Fig. b; n=8). またIL-6を24 h投与し、その1週間後にIL-6の効果を比較したところ、パターン型培養神経回路のIL-6投与群は非投与群に比べ、ネットワークバースト発火の持続時間が2.4倍上昇した(n=16). これらの結果は、IL-6によって興奮性-抑制性均衡が興奮性側にシフトするためであると考えられる。発表では、活動の同期性を低下させたパターン型培養神経回路を用いた同期性変調の解析などについても報告する予定である。(本研究は、文部科学省学術変革領域研究(B)

「脳神経マルチセルラバイオコンピューティング」、日本学術振興会科研費、JST さきがけ、JST-CREST、東北大学電気通信研究所共同プロジェクト研究の助成を受けて実施された。)

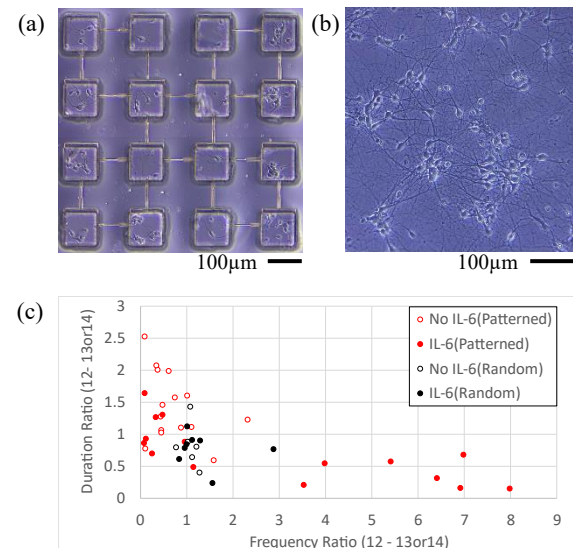


Fig: (a) Patterned neural network, (b) random neuronal network, and (c) acute responses to IL-6 administration.